



Estudio de las propiedades antimicrobianas de la *Camellia sinensis* en un modelo microbiano oral.

Study of the antimicrobial properties of *Camellia sinensis* in an oral microbial model.

Estudo das propriedades antimicrobianas da *Camellia sinensis* em um modelo microbiano oral.

Alberto Figueroa Banda¹, Marco Figueroa Banda², Fernando Torres Vela³, Gustavo Obando-Pereda⁴.

RECIBIDO: 15/en/2017 **CORREGIDO:** 20/jun/2017 **APROBADO:** 20/jul/2017

1. Docente de la Cátedra de Odontopediatria de la Facultad de Odontología de la Universidad Católica de Santa María. rufofigueroa@hotmail.com
2. Alumno de Postgrado de la Maestría de Docencia Universitaria de la Universidad Católica de Santa María. marcoaf12@hotmail.com
3. Docente de la Cátedra de Fisiología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica de Santa María. fetove_aqp1@hotmail.com
4. Docente de la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Católica de Santa María. gobando@ucsm.edu.pe

RESUMEN

Objetivo: Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto de *Camellia Sinensis* (té verde) sobre un modelo de microflora oral. **Materiales y métodos:** Fueron utilizados dos extractos etanólicos de té verde de diferente procedencia (Perú y China), en concentraciones de 16, 8, 4, 2, 1, 0.5 y 0.25mg/ml. Se evaluaron la concentración mínima y máxima inhibitoria sobre cepas de *S. mutans*, *S. mitis*, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *S. aureus*, *F. nucleatum*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, *C. glabrata* y *E. faecalis*. Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente utilizando la prueba estadística Kruskal Wallis con un nivel de significancia de 5%. **Resultados:** La *C. sinensis* mostró un efecto bacteriostático para las cepas de *S. mutans*, y fungiestático para *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*. ($p < 0.05$). **Conclusión:** El extracto etanólico de 16mg/ml de *Camellia Sinensis* presenta efecto inhibitorio sobre cepas de *S. mutans*, *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*.

Palabras clave:

ABSTRACT

Objective: To determine the *in vitro* antibacterial effect of the extract of *Camellia Sinensis* (green tea) on an oral microflora model. **Materials and methods:** Two ethanolic green tea extracts of different origin (Peru and China) were used in concentrations of 16, 8, 4, 2, 1, 0.5 and 0.25mg / ml. The minimum and maximum inhibitory concentrations were evaluated on *S. mutans*, *S. mitis*, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *S. aureus*, *F. nucleatum*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, *C. glabrata* and *E. faecalis* strains . The obtained data were statistically analyzed using the Kruskal Wallis statistical test with a significance level of 5%. **Results:** *C. sinensis* showed a bacteriostatic effect for the strains of *S. mutans*, and fungistatic for *C. albicans*, *C. tropicalis* and *C. glabrata*. ($P < 0.05$). **Conclusion:** The 16mg / ml ethanolic extract of *Camellia Sinensis* has an inhibitory effect on strains of *S. mutans*, *C. albicans*, *C. tropicalis* and *C. glabrata*.

Keywords: Phytotherapy; Streptococcus mutans; Candida Albicans,

RESUMO

Objetivo: Determinar o efeito antibacteriano *in vitro* do extracto de *Camellia Sinensis* (chá verde) sobre um modelo de microflora oral. **Materiais e métodos:** Foram utilizados dois extractos etanólicos de chá verde de diferente procedência (Peru e China), em concentrações de 16, 8, 4, 2, 1, 0.5 y 0.25mg/ml. Avaliaram-se as concentrações mínima e máxima inibitórias sobre cepas de *S. mutans*, *S. mitis*, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *S. aureus*, *F. nucleatum*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, *C. glabrata* y *E. faecalis*. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente utilizando o teste estadístico de Kruskal Wallis com um nível de significância de 5%. **Resultados:** *C. Sinensis* mostrou um efeito bacteriostático para *S. Mutans* e fungoestático para *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*. **Conclusão:** O extracto etanólico de 16mg/ml de *Camelia Sinensis* apresenta efeito inibitório sobre as cepas de *S. mutans*, *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*.

Palavras chave: Fitoterapia; *Streptococcus mutans*; *Candida albicans*.

INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han sido utilizadas desde épocas primitivas en el tratamiento de enfermedades. Durante mucho tiempo los fármacos naturales y sobre todo las plantas medicinales, fueron el principal e incluso el único recurso del que disponían los médicos¹.

La *fitoterapia*, nombre que se aplica al uso medicinal de las plantas, nunca ha dejado de tener vigencia. Muchas de las especies vegetales utilizadas por sus virtudes curativas entre los antiguos egipcios, griegos y romanos pasaron a formar parte de la farmacopea medieval, la que más tarde se vio enriquecida por el aporte de los conocimientos del Nuevo Mundo¹.

En los últimos años se ha incrementado notablemente los estudios de sustancias naturales entre ellas el té verde, que es una planta nativa del Asia, cultivado en muchos países del mundo que por su contenido de polifenoles tiene un amplio efecto antiviral, antibacteriano, anticancerígeno^{2,3}. Igualmente combate el mal aliento por la reducción del hidrogeno sulfurado (H₂S). Por otro lado se ha demostrado que los taninos y el flúor que contienen, afectan el crecimiento, la adherencia y el almacenamiento de los polisacáridos intracelulares; el flúor inhibe la acción enzimática, así como los flavonoides inhibe la adherencia, la inhibición de la producción de ácido láctico; el ácido tánico inhibe la síntesis de dextranos solubles e insolubles por las cepas de *S. mutans*².

Las Caries dental tiene su origen en la existencia de una placa dentobacteriana previa o biopelícula de la placa, definida según la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una entidad bacteriana proliferante con actividad enzimática que se adhiere firmemente a las superficies dentarias y que por su actividad bioquímica y metabólica ha sido propuesta como el agente etiológico principal en el desarrollo de esta enfermedad⁴. El *Streptococcus mutans*, se considera como la especie más frecuentemente aislada en el biofilm dental, por consiguiente, el hecho de reconocer al *Streptococcus mutans* como el microorganismo más importante en la iniciación de la caries, con-

INTRODUCTION

Medicinal plants have been used in the treatment of diseases since ancient times. Long natural drugs and especially medicinal plants, were the main and even the unique remedy which were used by doctors.

Phytotherapy, name which applies to the medicinal use of plants, has never stopped runs. Many of the plant species used for its healing virtues among the ancient Egyptians, Greeks and Romans became part of medieval Pharmacopoeia, which later was enriched by the contribution of the knowledge of the new world¹.

In recent years has increased dramatically the studies of natural substances including green tea, which is a plant native from Asia, cultivated in many countries of the world due to its content of polyphenols have a broad effect, antiviral, antibacterial, anti cancerous^{2,3}. Also it can be able to fight against the halitosis by the reduction of the hydrogen sulfide (H₂S). On the other hand has been shown the tannins and fluorine-containing inside it, affecting growth, adhesion and the storage of intracellular polysaccharides; the fluoride inhibits the enzymatic action, as well as the flavonoid inhibits the adhesion, the inhibition of the production of lactic acid; tannic acid inhibits the synthesis of soluble and insoluble dextrans by strains of *S. mutans*².

Dental Caries has its origin in the existence of a plate plaque or plaque biofilm, and it defined according to the World Health Organization as a bacterial entity proliferating with enzymatic activity that adheres firmly to tooth surfaces and which by its biochemical and metabolic activity has been proposed as the Etiologic Agent in the development of this disease⁴. *Streptococcus mutans* is considered as the most frequently isolated species in the dental biofilm, thus recognising the *Streptococcus mutans* as the most important microorganism in the initiation of tooth decay leads to design

duce a diseñar medidas de prevención dirigidas hacia la eliminación o disminución de éste, en la cavidad oral; siendo uno de los mecanismos para su control el uso de antimicrobianos^{4,5}.

En el Perú, la caries dental ocupa el segundo lugar en la tabla de morbilidad general a nivel nacional y la tercera ubicación en la etapa de la niñez con un 9.1% solamente superada por las infecciones de las vías respiratorias agudas y las infecciones intestinales según el ministerio de salud ⁶. En el ámbito odontológico, el importante crecimiento mundial de la fitoterapia dentro de programas preventivos y curativos ha estimulado la investigación con el fin de avalar la actividad antimicrobiana de distintos extractos de plantas con el fin de ayudar en el control del biofilm dental y por consiguiente en la disminución de la incidencia de caries dental y enfermedad periodontal.

Por lo tanto, el objetivo de la investigación fue determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto de *Camellia Sinensis* sobre un modelo de microflora oral.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio contó con aprobación por el comité de ética de la Universidad Católica de Santa María, Arequipa-Perú.

Elaboración del extracto de *camellia sinensis* (té verde)

Se utilizó té verde nacional (Perú) e importado (China). Estos fueron llevados a las instalaciones del laboratorio de la Universidad Católica de Santa María, donde se procedió a su respectiva elaboración.

Una vez en el laboratorio se produjo el tamizado del mismo para eliminar impurezas. Se realizó el pesaje de 50 gr de té verde y se procedió a macerar en 400ml de alcohol de 70|° en una proporción de 8 a 1 por un día, después del macerado se procedió a filtrar con papel de filtro, obteniéndose inicialmente un extracto no tan concentrado.

Para obtener una mayor concentración del extracto se procede a extraer el alcohol de dicho

preventive measures aimed at eliminating or decrease it in the oral cavity; therefore , one of the mechanisms to control it is the use of antimicrobials ^{4,5}.

In Peru, the dental caries has the second position in the table of general nationally morbidity and the third position in the stage of childhood with a 9.1% only surpassed by acute respiratory tract infections and intestinal infections, according to the Peruvian Ministry of health ⁶. In the dental field, important global growth of phytotherapy in preventive and curative programmes has stimulated research in order to endorse the antimicrobial activity of different extracts from plants in order to contribute in the control of dental biofilm and consequently in decreasing the incidence of dental caries and periodontal disease.

Therefore, the objective of the research was to determine antibacterial effect in vitro of *Camellia Sinensis* extract in a model of oral microflora.

MATERIALS AND METHODS

This study was approved by the Ethics Committee of the Catholic University of Santa María, Arequipa, Peru.

Preparation of the extract of *camellia sinensis* (green tea)

Used national Green tea (Peru) and imported (China). These were brought to the facilities of the laboratory of the Catholic University of Santa Maria, where we proceeded to their respective development.

Once in the laboratory came sieving it to remove dirt. we were weighing 50 g of green tea and proceeded to macerate in alcohol of 70 400ml |° in a proportion of 8 to 1 for a day, after the macerated proceeded to filter through filter paper, initially obtaining a not so concentrated extract.

To obtain a higher concentration of the extract comes to remove the spirit of macerated said

macerado mediante la utilización de un rotavapor el cual nos permitió obtener 15 ml de extracto de té verde. Se ajustaron para una solución final de 64mg/ml.

Reconstitución de los microorganismos.

El modelo de microfloral oral fue constituido por culturas de *Streptococcus mutans* AU159, *Streptococcus mitis* ATCC 903, *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida tropicalis* CBS 94, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469, *Lactobacillus. casei* ATCC 334, *Candida glabrata* CBS 138 y *Enterococcus faecalis* MB146. Se colocaron en estufa en condiciones aeróbicas y/o anaeróbicas a 37°C por 18 horas. Seguidamente, se preparó una solución de microorganismos equivalente a 0.5 de la escala Mac Farland y medidas en espectrofotómetro a 626nm ajustadas con solución salina para una densidad óptica de 0.08 a 0.10, para realizar el test de concentración mínima y máxima inhibitoria. A partir de las soluciones padronizadas se procedió a la dilución seriada para obtener, al final de la misma, la concentración de 1.5×10^6 UFC/ml y de esta última solución, 6 ml fueron transferidos para tubos conteniendo 3ml de medio de cultura (BHI) estableciéndose una concentración de 1×10^6 UFC/ml o de $1,0 \times 10^5$ en 100 ul, siendo que en los pozos de las microplacas inoculadas las concentraciones resultaron en 5×10^5 UFC/ml ⁷.

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).

En una micropipeta esterilizada de 96 orificios serán depositados 100 ul de caldo Muller-Hilton hasta la columna 9, siendo la columna 8 utilizada para los controles de los microorganismos y la 9 columna para los controles de la esterilidad del medio de cultura. En la línea A (columnas del 1 al 8) serán aumentados 50ul de la solución del té verde nacional en una placa e importado en otro, de concentración conocida y acrecentada 50ul del medio Muller-Hinton, siendo estos referentes a los controles de esterilidad de los mismos. Seguidamente, 100ul de los materiales de estudio en la

using a rotary evaporator, which allowed us to obtain 15 ml of green tea extract. They were adjusted to a final solution of 64 mg/ml.

Reconstitution of the microorganisms.

Microfloral model oral was constituted by cultures of *Streptococcus mutans* AU159, *Streptococcus mitis* ATCC 903, *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida tropicalis* CBS 94, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469, *Lactobacillus. casei* ATCC 334, *Candida glabrata* CBS 138 and *Enterococcus faecalis* MB146. They were placed in an oven under aerobic or anaerobic conditions at 37 ° C for 18 hours. Then a solution of microorganisms equivalent to 0.5 of Mac Farland scale and measures on spectrophotometer to 626nm adjusted with saline solution to an optical density of 0.08 to 0.10, was prepared to make the test of minimum and maximum inhibitory concentration. From solutions standardized proceeded to the serial dilution to obtain, at the end of the same, the concentration of 1.5×10^6 cfu/ml and this last solution, 6 ml were transferred to tubes containing 3 ml of culture (BHI) means establishing a concentration of 1×10^6 cfu/ml or 1.0×10^5 in 100 ul , being that in the inoculated microplate wells concentrations resulted in 5×10^5 cfu/ml ⁷.

Determination of the minimum inhibitory concentration (MIC).

In a sterile micropipette of 96 holes will be deposited 100 ul of Müller-Hilton broth until the column 9, being the column 8 used for controls of microorganisms and the 9 column for the controls of the sterility of the culture medium. On the line (columns from 1 to 8) will be increased 50µl of the National Green tea solution on a plate and imported in another concentration known and increased 50µl of the Muller-Hinton medium, being these references to the sterility of the same controls. Then, 100ul of the study materials in the line B (columns 1 to 8), the con-

línea B (columnas 1 al 8), el contenido de los orificios homogenizados con el medio y transferidos a los orificios de las líneas C, D, E, F, G, repitiéndose este procedimiento hasta la línea H, de modo a obtener una concentración decreciente del material de estudio. Los 100ul finales serán retirados⁷.

En la columna 9, línea A, 100 ul de una solución de cloranfenicol será adicionado, control antibiótico, seguida de la dilución hasta la línea H conforme el procedimiento anterior utilizado para los materiales de estudio. En seguida, 100ul de una suspensión de microorganismos de crecimiento reciente, con una turbidez comparada a la escala 0.5 de Mac Farland diluídas a una concentración final de 10⁴ células/ml serán adicionados hasta la columna 9 con excepción para la línea 1, columnas 1 y 8. Las placas serán incubadas por 24 horas a 37°C y después de este periodo serán adicionados 50ul de una solución de Cloruro de Trifenil Tetrazolium (CTT) seguida por una incubación de 3 horas⁷.

La concentración mínima inhibitoria será definida como la menor concentración del material capaz de impedir el crecimiento del microorganismo. Seguidamente, para comprobar su actividad antimicrobiana, alícuotas de 20ul fueron trasladadas a placas de cultura celular para observar las características antimicrobianas del extracto⁷.

Análisis estadístico

Los datos serán analizados en el programa GraphPad Prism v6, fue utilizado la prueba Kruskal Wallis con un nivel de significancia de 5%.

RESULTADOS

Los resultados mostraron que tanto el té verde nacional como importado no muestran diferencias inhibitorias en el modelo de microflora utilizado. La *Camellia Sinensis* no poseen características antimicrobianas contra las bacterias *S. mitis*, *S. aureus*, *F. nucleatum*, *L. rhamnosus* y *E. faecalis*. Fue observada una respuesta bacteriostática a la concentración de 16mg/ml sobre el *S. mutans*; así mismo, presentan una actividad fungiestática para las levaduras evaluadas a una concentración de 16mg/ml como se muestra en el Cuadro N°1.

tents of the homogenized with the Middle holes and transferred to the holes of the lines C, D, E, F, G, repeating this procedure until the H line, in order to obtain a decreasing concentration of the study material. The final 100ul will be retired⁷.

In column 9, line A, 100 ul of chloramphenicol solution will be added, antibiotic control, followed by dilution to the H-line according to the above procedure used for the study materials. Immediately, 100ul of a suspension of microorganisms of recent growth, with turbidity compared to 0.5 of Mac Farland scale diluted to a final concentration of 10⁴ cells/ml will be added to column 9 except for line 1, column 1 and 8. The plates will incubated for 24 hours at 37 ° C and after this period will be added 50ul of a solution of triphenyl Tetrazolium chloride (CTT) followed by an incubation for 3 hours⁷.

The minimum inhibitory concentration will be defined as the lowest concentration of the material capable of preventing the growth of the microorganism. Then, to test their antimicrobial activity, 20ul aliquots were transferred to cell culture plates to observe the anti-microbial properties of the extract⁷.

Statistical analysis.

The data will be analyzed in the program GraphPad Prism v6, was used Kruskal Wallis test with a significance level of 5%.

RESULTS

The results showed that both national Green tea as imported not show inhibitory differences in the model of microflora used. The *Camellia Sinensis* do not have anti-microbial properties against the bacteria *S. mitis*, *S. aureus*, *f. nucleatum*, *l. rhamnosus* and *E. faecalis*. We observed a bacteriostatic response to 16 mg/ml on the *S. mutans* concentration; also, they have a fungistatic activity for yeasts evaluated at 16 mg/ml concentration as shown in table no. 1.

Cuadro 1: Efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Camellia Sinensis* a diferentes concentraciones.

	16mg/ml	8mg/ml	4mg/ml	2mg/ml	1mg/ml	0,5mg/ml	0,25mg/ml
<i>S. mutans</i>	- **	+	+	++	+++	+++	+++
<i>S. mitis</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>S. aureus</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>F. nucleatum</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>L. rhamnosus</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>L. casei</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>C. albicans</i>	- **	+	+	++	+++	+++	+++
<i>C. tropicalis</i>	- **	+	+	++	+++	+++	+++
<i>C. glabrata</i>	- **	+	+	++	+++	+++	+++

Leyenda: - demuestra crecimiento negativo; + ligera turbidez; ++ turbidez; +++ exagerada turbidez.

** Prueba de Kruskal Wallis, estadísticamente significante (p<0.05).

Table 1: Inhibitory effect of ethanolic extract of *Camellia Sinensis* at different concentrations.

	16mg/ml	8mg/ml	4mg/ml	2mg/ml	1mg/ml	0,5mg/ml	0,25mg/ml
<i>S. mutans</i>	- **	+	+	++	+++	+++	+++
<i>S. mitis</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>S. aureus</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>F. nucleatum</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>L. rhamnosus</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>L. casei</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>C. albicans</i>	- **	+	+	++	+++	+++	+++
<i>C. tropicalis</i>	- **	+	+	++	+++	+++	+++
<i>C. glabrata</i>	- **	+	+	++	+++	+++	+++

Legend:-shows negative growth; + light turbidez; ++ turbidity; +++ exaggerated turbidity.

Test Kruskal Wallis, statistically significant (p<0. 05).

DISCUSIÓN

La *Camellia sinensis*, conocida como té verde, es un fitoterápico usado para diferentes aplicaciones médica entre ellas su poder antimicrobiano para algunos microorganismos conocidos en el ámbito de la odontología como el *S. mutans* y especies de *Candida*, principalmente, con resultados promisorios en su gran mayoría^{2,8}.

En el presente estudio la *C. sinensis* tuvo un efecto bacteriostático para el *S. mutans* y las especies de *Candida*, para las otras cepas bacterianas no presentó eficacia antimicrobiana, estos resultados son similares a los de Anita et al., 2014², Araghizadhe

DISCUSSION

The *Camellia sinensis*, known as green tea, is a phytotherapeutic used for several medical applications including its antimicrobial power for certain microorganisms known in the field of dentistry as the *S. mutans* and *Candida* species, mainly, with promising results in your great majority^{2,8}.

In the present study the *C. sinensis* had a bacteriostatic effect on *S. mutans* and *Candida* species, to other bacterial strains did not provide antimicrobial effectiveness, these results are similar to the Anita et al., 2014², Araghizadhe

zadhe et al., 2013³, Ricardo, 2011⁹, Ferrazzano et al., 2011¹⁰ y Awadalla et al., 2011¹¹ que mostraron inhibición para el *S. mutans*.

Este estudio también demostró que la *C. sinensis* tiene un poder fungiestático para especies de *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*, estos resultados son similares a Steinmann et al., 2013⁸ que demuestran una inhibición para algunas especies de levadura y a los de Antunes et al., 2015⁸ en donde el extracto acuoso de té verde redujo el número de células fúngicas sobre la resina acrílica.

Los estudios muestran una acción de la *C. Sinensis* sobre diferentes microorganismos presentes en la microflora oral, por ser un producto natural, fácil acceso y bajo costo su uso puede recomendarse en la prevención de diferentes problemas bucales.

CONCLUSIÓN

En el presente estudio se puede demostrar que la *Camellia sinensis* al 16 mg/ml posee actividad bacteriostática y fungiestática para el *S. mutans*, *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al CONCYTEC – PERÚ, por financiar directamente esta investigación.

BIBLIOGRAFÍA / BIBLIOGRAPHY

1. Piatkowska E, Rusiecka-Ziolkowska J. Influence of Essential Oils on Infectious Agents. *Adv Clinical Exp*. 2016; 25(5):989-95.
2. Anita P, Sivasamy S, Madan Kumar PD, Balan IN, Ethiraj S. In vitro antibacterial activity of *Camellia sinensis* extract against cariogenic microorganisms. *J Basic Clin Pharm*. 2014; 6(1):35-9.
3. Araghizadeh A, Kohanteb J, Fani MM. Inhibitory activity of green tea (*Camellia sinensis*) extract on some clinically isolated cariogenic and periodontopathic bacteria. *Med Princ Pract*. 2013;22(4):368-72.

et al., 2013³, Ricardo, 2011⁹, Ferrazzano et al., 2011¹⁰ and Awadalla et al., 2011¹¹ showed inhibition for *S. mutans*.

This study also showed that *C. sinensis* has a power of fungi-static to species of *C. albicans*, *C. tropicalis* and *C. glabrata*, these results are similar to Steinmann et al., 2013⁸ showing an inhibition for some species of yeast and the one's Antunes et al., 2015⁸ where the aqueous extract of green tea reduced the number of fungal cells on the acrylic resin.

Studies show an action of the *C. Sinensis* on different microorganisms in the oral microflora, being a natural product, easy access and low-cost use may be recommended in the prevention of different oral problems.

CONCLUSION

In the present study it can be demonstrated that the *Camellia sinensis* 16 mg/ml has fungistatic and bacteriostatic activity for *S. mutans*, *C. albicans*, *C. tropicalis* and *C. glabrata*.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thanked the CONCYTEC - PERU, by directly funding this research.

4. Sicca C, Bobbio E, Quartuccio N, Nicoló G, Cistaro A. Prevention of dental caries: A review of effective treatments. *J Clinical Exp Dent*. 2016; 8(5):e604-e10.
5. Legenova K, Bujdakova H. [The role of *Streptococcus mutans* in the oral biofilm]. *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie : casopis Spolecnosti pro epidemiologii a mikrobiologii Ceske lekarske spolecnosti JE Purkyne*. 2015;64(4):179-87.
6. Espinoza MS, León RAM. Prevalencia y experiencia de caries dental en estudiantes según fa-

- cultades de una universidad particular peruana. *Rev Estomatol Herediana*. 2015; 25(3):187-93.
7. Duarte MC, Figueira GM, Sartoratto A, Rehder VL, Delarmelina C. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*. 2005;97(2):305-11.
 8. Steinmann J, Buer J, Pietschmann T, Steinmann E. Anti-infective properties of epigallocatechin-3-gallate (EGCG), a component of green tea. *Br J Pharmacol*. 2013; 168(5):1059-73.
 9. Ricardo PMP. Efecto antibacteriano in vitro del extracto de té verde (*Camellia sinensis*) en comparación con el gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre el *Streptococcus mutans* en el laboratorio microbiológico de la UCSM, 2011.: Universidad Católica de Santa María; 2011.
 10. Ferrazzano GF, Roberto L, Amato I, Cantile T, Sangianantoni G, Ingenito A. Antimicrobial properties of green tea extract against cariogenic microflora: an in vitro study. *J Med Food*. 2011; 14(9): 907-11.
 11. Awadalla HI, Ragab MH, Bassuoni MW, Fayed MT, Abbas MO. A pilot study of the role of green tea use on oral health. *Int J Dent Hyg*. 2011; 9(2): 110-6.
 12. Antunes DP, Salvia AC, de Araújo RM, Di Nicoló R, Koga Ito CY, de Araujo MA. Effect of green tea extracted and mouthwash without alcohol on *Candida albicans* biofilm on acrylic resin. *Gerodontology*. 2015; 32(4): 291-5.